

[塩基配列]

```

1  ccagctggag cctgagtgg ctgagctcag gccttogcag cattcttggg tgggagcagc
61  cacgggtcag ccacaagggc cacagccatg aatggcacag aaggccctaa cttctacgtg
121 cccttctcca atgcgacggg tgtggtacgc agccocttgc agtaccacaa gtactacctg
181 gctgagccat ggcagttctc catgctggcc gcctacatgt ttctgtgat cgtgctgggc
241 ttcccatca acttcotcac gctctacgtc accgtccagc acaagaagct gcgcacgcct
301 ctcaactaca tcctgctcaa cctagccgtg gctgaacctc tcattggtcct aggtggcttc
361 accagcacc cctacacctc totgcatgga tacttctctc tcgggcccac aggatgcaat
421 ttggagggtc tcttggccac cctgggcggt gaaattgccc tgttgtcctt ggttgtcctg
481 gccatcgagc ggtacgtggt ggtgtgtaag cccatgagca acttcgcctt cggggagAAC
541 catgccatca tgggcgttgc cttcacctgg gtcatggcgc tggcctgcgc cgcacccccA
601 ctgcgccggt ggtccaggta catccccgag ggccctgcagt gctcgtgtgg aatcgactac
661 tacacgtca agccggagggt caacaacgag tcttttgtca totacatgtt cgttgtccac
721 ttcaccatcc ccatgattat catcttttct tgctatgggc agctcgtctt caccgtcaag
781 gaggcgcgtg cccagcagca ggagtcagcc accacacaga aggcagagaa ggaggtcacc
841 cgcattgtca tcacatggt catcgttctc ctgatctgct ggggtgccct cgcacgcgtg
961 gcgttctttg ccaagagcgc cgcctctac aacctgtca tctatatcat gatgaacaag
1021 cagttccgga actgcatgct caccaccatc tgctcgggca agaaccact ggtgacgat
1081 gaggcctctg ctaccgtgtc caagacggag acgagccagg tggccccggc ctaagacctg
1141 cctaggactc tgtggccgac tataggcgtc tccatcccc tacacottcc cccagccaca
1201 gccatccac cag

```

[アミノ酸配列]

```

~MNGTEGPNFYVPFSNATGVVRSPFEYPQYYLAEPWQFSMLAAYM
FLLIVLGFPINFLTLYVTQVHKKLRTPLENYILLNLAVADLFMVLGGFTSTLYTSLHGY
FVFGPTGCNLEGGFATLGGEIALWSLVVLAIRYVVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFT
WVMALACAAPPLAGWSRYIPEGLQCSCGIDYYTLKPEVNNESFVIYMFVVHFTIPMI
IFFCYGGQLVFTVKEAAAQQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVIAFLIHWVPYASVAFYIF
THQGSNFGPIFMTIPAFFAKSAIYNPVIYIMMKNQFRNCMLTTICCGKNPLGDDEAS
ATVSKTETSQVAPA~

```

図2 Nucleotide sequence of the cDNA and the amino acid sequence of human rhodopsin (NCBI BC112104)

表1 視物質アミノ酸配列の相同性 (%)

| | ヒト 赤色覚色素 | ヒト 緑色覚色素 | ヒト 青色覚色素 | ヒト ロドプシン |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| ヒト 赤色覚色素 | 100 | 96 | 43 | 40 |
| ヒト 緑色覚色素 | | 100 | 44 | 41 |
| ヒト 青色覚色素 | | | 100 | 45 |
| ヒト ロドプシン | | | | 100 |

奮する。興奮は視神経を介して脳の視覚中枢に達し、各々の色として意識される。我々ヒトの色覚が3色型色覚(trichromacy)であるのは保有する色覚タンパクの種類(RGB)に依存したものである。

ところで、マウスやラットのネズミあるいはイヌの仲間など哺乳類の多くは青付近に吸収極大波長をもつ視物質と緑—黄緑に吸収極大波長をもつ視物質の2種類を保有している。したがって2型色覚である。二原色の世界に住んでいるといえる。2007年「Emergence of Novel Color Vision in Mice Engineered to Express a Human Cone Photopigment」と題する論文が発表された。文献4)

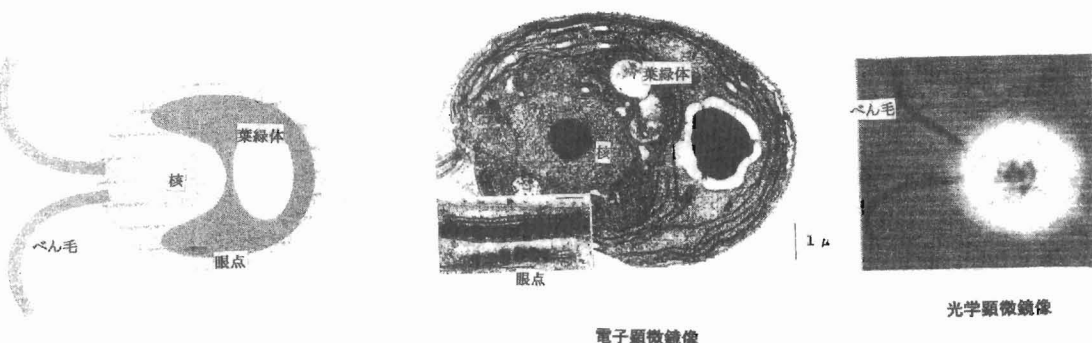


図3 *Chlamydomonas reinhardtii*は二本のべん毛持つ約10μサイズの単細胞真核生物である。

この *Chlamydomonas* においても特定波長域の光を吸収する光受容タンパクが明らかにされてきました。文献 8,9,10) その中から特にロドプシンと類似配列を持つ、チャンネル ロドプシン関連の話題を取り上げて最近注目されている幾つかのトピックスを紹介します。

近年バイオデータベースが充実してきました。大腸菌ゲノムから人ゲノムまでフリーに提供されます。*Chlamydomonas* の光受容(あるいはチャンネル関連)遺伝子をヒト・マウスゲノムデータベース中に類似検索してみましょう。いくつかは高い相同性を示します。その意味するところは、第一に「眼はどこからきたのか。」ヒトの目の祖型をこの単細胞生物に尋ねることができるのではと、研究者のロマンをかきたててくれます。第二は次の項目に述べる実用面での貢献です。

3. 単細胞真核生物 クラミドモナス

カリフォルニア大学(バークレー校)の Flannery らは *Chlamydomonas* から channelrhodopsin-2(以下 ChR2)遺伝子(図4)を取り出し、この遺伝子を先天

た赤遺伝子をマウスに組み込み、それがうまくマウスの眼で活動していることを確認した。つまり自然界には存在することのない三原色を識別できるネズミの出現である。

2. 単細胞真核生物 クラミドモナス

Chlamydomonas reinhardtii は直径10ミクロンの単細胞生物で、核膜にとりかこまれた細胞核、そしてミトコンドリア、眼点、べん毛その他一揃いのオルガネラを備えている(図3)文献 5,6,7)。アメリカでは高校生物の教科書に図版とともに掲載されていて実験材料としてポピュラーです。身近ではクロレラを想定してください。あるいは池、沼のアオコになることもあります。

的盲目のマウスの視細胞に取り込ませ光受容能の回復を認めた(文献 11)。塩基配列の相同性から予想された事ではあるが、ChR2 が *Chlamydomonas* と哺乳類で互換的であることを示している。更に、今年(2008年)東北大学の富田准教授らの研究グループはこの ChR2 遺伝子を臨床応用に活用すべく、網膜色素変性症で失明したラットの網膜に注入し、処置6週間後、視力回復を報告した(文献 12)。網膜視細胞に取り込まれた遺伝子の発現によって光受容能が回復したものと思われる。網膜色素変性症は4000人に1人に発症するとされ、根本的な治療法がない。安全性を検討の上での実用化が期待されている。

この微生物由来の視物質 ChR2 は1価と2価の陽イオンを通すイオンチャンネルとして働く。神経細胞でこの ChR2 遺伝子を発現させるなら、光を当てると電気的変化を引き起こす。つまり、その活動が光によってコントロールできる可能性を示している。実際にラット海馬ニューロンに ChR2 遺伝子を発現させて光でニューロンが操れることが証明されている(文献 13)。光スイッチを生き

[塩基配列]

```

1 atggactatg gcggcgcttt gtctgcogtc ggacgcgaac tttgttcgt tactaatcct
61 gtggtggtga acgggtccgt cctggtccct gaggatcaat gttactgtgc cggatggatt
121 gaatctcgcg gcacgaacgg cgctcagacc gcgtcaaatg tcctgcagtg gcttcagca
181 ggattcagca ttttgcgtct gatgttctat gcctaccaa cctggaaatc tacatcgggc
241 tgggaggaga tctatgtgtg ogocattgaa atggttaagg tgattotcga gttctttttt
301 gagtttaaga atccctctat gctctacott gccacaggac accgggtgca gtggctcgcg
361 tatgcagagt ggctgctcac ttgtcctgtc atccttatcc acctgagcaa cctcacgggc
421 ctgagcaacg actacagcag gagaaccatg ggactccttg tctcagacat cgggactatc
481 gtgtgggggg ctaccagcgc catggcaacc ggctatgtta aagtcatctt cttttgtctt
541 ggattgtgct atggcgcgaa cacattttt caogccgcca aagcatatat cgagggttat
601 catactgtgc caaagggtcg gtgcccgcag gtogtgacog gcatggcatg gctgtttttc
661 gtgagctggg gtatgttccc aattctottc attttggggc ccgaagggtt tggcgtcctg
721 agogtctatg gctccaccgt aggtcacacg attattgac tgatgagtaa aaattgttg
781 gggttgttg gacactacct gcgcgtcctg atccacgagc acatattgat tcacggagat
841 atccgcaaaa ccacaaaact gaacatcggc ggaacggaga tcgaggtcga gactctcgtc
901 gaagacgaag ccgaggccgg agccgtgcc taa

```

[アミノ酸配列]

```

MDYGGALSAVGRELLFVTNPVVVNGSVLVPEDQCYCAGWIESRG
TNGAQTASNVLQWLAAGFSILLMFYAYQTKSTCGWEEIYVCAIEMVKVLEFFFEF
KNPSMLYLATGHRVQWLRYAEWLLTCPVILIHLNLTGLSNDYSRRTMGLLVSDIGT
VWGATSAMATGYVKVIFFLGLCYGANTFFHAAKAYIEGYHTVPKGRRCQVVTGMWL
FFVSWGMPILFILGPEGFVLSVYGSTVGHITIDLSKNCWGLLGHYLRVLIHEHIL
IHGDIRKTTKLNIGGTEIEVETLVEDEAEAGAVP~

```

図4 Nucleotide sequence of the cDNA and the amino acid sequence of channel rhodopsin -2 gene (NCBI EF474017)

た動物へ応用して、電極による刺激に取って代わり個々の細胞に、非侵襲的に刺激を与えることができる。Nagelらは線虫の細胞にChR2を発現させて光でその行動を制御できることを示した文献(14)。知覚や認知、行動の研究新たなツールを加えるものと思われます。

参考文献

- 1) Nathans,J.,Thomas,D. and Hogness,D.S., Molecular genetics of human color vision: The genes encoding blue,green and red pigments, *Science*, vol.232, pp193-202 (1986)
- 2) Vollrath,D.,Nathans,J and Davis,R.W., Tandem array of human visual pigment genes at X28, *Science*,vol.240,pp1669-1671(1988) Feil, D.
- 3) Aubourg, P., Heilig, R. and Mandel,J.L., A 195-kb cosmid walk encompassing the human Xq28 color vision pigment genes,*Genomics*, vol.6,pp367-373(1990)
- 4) Jacobs,G.H.,Williams,G.A. Cahill,H. and Nathans,J. Emergence of novel color vision in mice engineered to express a human cone photopigment, *Science*, vol. 315, pp 1723-1725 (2007)
- 5) Sato ,C., A conditional cell division mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* having an increased level of colchicine resistance, *Exptl.Cell Res.*, vol.101, pp251-259 (1976)
- 6) Kuroiwa,T,Kawano,S.Nishibayashi,S. and Sato,C., Epifluorescent microscopic evidence for maternal inheritance of chloroplast DNA, *Nature*, vol.298, pp481-483 (1982)
- 7) 佐藤忠文 研究材料としての *Chlamydomonas* 一性的活性化に対する光のかかわり, 東北大学遺伝生態センターIGE シリーズ vol.6, pp53-67(1989)
- 8) Suzuki,T., et al., Archaeal-type rhodopsins in *Chlamydomonas*, *Biochem.Biophys. Res. Comm.*, vol.301,pp711-717(2003)
- 9) Kateriya,S.,Nagel,G.,Bawberg,E. and Hegemann, P., Vision in single-celled algae a useful tool for noninvasive control of membrane potential. *News Physiol.Sci.*, vol.19,pp133-137(2004)
- 10) Nagel, G, et al., Channel rhodopsins: directly light-gated cation channels, *Biochem. Soc.Trans.*, vol.33, pp863-866(2005)
- 11) Flannery ,J.G and Greenberg,K.P., Looking within for vision, *Neuron*, vol.50, pp23-33 (2006)
- 12) 富田浩史、菅野江里子、緑藻類由来遺伝子を用いた視覚再生（遺伝子導入による視機能再建）第7回日本再生医療学会シンポジウム（2008年、3月名古屋）
- 13) Boyden,E.S.,ZhangF.,BambergE.,NagelG.And Deisseroth,K., Millisecond-timescale genetically targeted optical control of neural activity, *Nat.Neurosci.*, vol.9, pp 1263-1268(2005)
- 14) Nagel,G,Brauner,M.,Liewald,J.F.,Adeishvili,N.,Bamberg,E. and Gottschalk,A., Light activation of channelrhodopsin-2 in excitable cells of *Caenorhabditis elegans* triggers rapid behavioral, *Curr.Biol.*, vol.15, pp 2279-2284(2005)